

EFEITO DO AZOSPIRILLUM SPP. EM ASSOCIAÇÃO COM DIFERENTES DOSES DE ADUBAÇÃO MINERAL NA CULTURA DO TRIGO

Marcia de Holanda Nozaki – Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR

Ricardo Lorenzatto – Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR

Marlon Mancini – Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR

RESUMO: As bactérias diazotróficas promotoras do crescimento e produtividade do gênero *Azospirillum*, em associação a poáceas, como o trigo, promovem maior área de absorção radicular de nutrientes. O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da inoculação de *Azospirillum* spp., em sementes de trigo, com diferentes doses de adubação mineral sobre os componentes de produção e produtividade. Foram realizados seis tratamentos, sendo: 290; 250; 205 kg ha⁻¹ de adubação mineral com *Azospirillum* spp.; sem adubação; apenas *Azospirillum* spp.; e apenas adubação mineral de 250 kg ha⁻¹. O experimento foi realizado em Casa de Vegetação da PUCPR, Campus Toledo. Foram avaliadas: massa fresca e seca de parte aérea e raiz, comprimento de raiz e produtividade. Para todas as variáveis houve diferença significativa, tendo o tratamentos adubação química com *Azospirillum* spp., apresentado melhor resultado em todas as variáveis, sendo semelhante porém aos tratamentos com adubação química e *Azospirillum* spp.

PALAVRAS-CHAVE:

inoculação, *Triticum aestivum*, bactérias diazotróficas.

KEYWORDS:

Inoculation, *Triticum aestivum*, diazotrophic bacteria

ABSTRACT: The diazotrophic bacteria that promotes growth and productivity of *Azospirillum* generous in association with grasses such as wheat, promote greater root absorption area of nutrients. This study aimed to evaluate the effects of inoculation with *Azospirillum* spp. in wheat seeds with different doses of mineral fertilization on yield components and yield. It was performed six treatments: 290, 250, 205 kg ha⁻¹ of mineral fertilizer with *Azospirillum* spp.; without fertilization; just *Azospirillum* spp., and only mineral fertilization of 250 kg ha⁻¹. The experiment was conducted in a greenhouse at PUCPR, Toledo Campus. It was evaluated: fresh and dry weight of shoot and root, root length and productivity. For all variables significant differences were observed, being the chemical fertilization treatments with *Azospirillum* spp. Which presented better results in all variables, but similar to treatments with chemical fertilization and *Azospirillum* spp.

Artigo Original

Recebido em: 30/09/2013

Avaliado em: 14/01/2014

Publicado em: 12/12/2014

Publicação

Anhanguera Educacional Ltda.

Coordenação

Instituto de Pesquisas Aplicadas e

Desenvolvimento Educacional - IPADE

Correspondência

Sistema Anhanguera de

Revistas Eletrônicas - SARE

rc.ipade@anhanguera.com

1. INTRODUÇÃO

O trigo é originário do Oriente Médio, mais precisamente da Ásia, sendo um dos cereais mais utilizados na alimentação humana. Ocupa 20% da área cultivada no mundo, pertencente à família das poaceae, gênero *Triticum*, compreendendo várias espécies (CASTRO; KLUGUE, 1999).

É uma planta de ciclo anual, cultivada durante o inverno e na primavera. O grão é consumido na forma de pão, massa alimentícia, bolo e biscoito. Usado também como ração animal, quando não atinge a qualidade exigida para o consumo humano (ZAGONEL et al., 2002).

O trigo ocupa o primeiro lugar em volume de produção mundial. No Brasil, a produção anual oscila entre 5 e 6 milhões de toneladas. É cultivado nas regiões Sul (RS, SC e PR), Sudeste (MG, SP) e Centro-oeste (MS, GO e DF). O consumo anual no país tem se mantido em torno de 10 milhões de toneladas. Cerca de 90% da produção de trigo está no Sul do Brasil. O cereal vem sendo introduzido paulatinamente na região do cerrado, sob irrigação ou de sequeiro (EMBRAPA, 2005).

A cultura do trigo no Brasil vem alcançando maior importância frente aos países produtores e exportadores, sendo sua produção final definida em função de diferentes parâmetros (CASTRO; KLUGUE, 1999).

Neste contexto, o uso crescente de cultivares com alto potencial produtivo tem implicado em maior escala de uso de insumos, entre os quais a adubação nitrogenada, mostra-se importante na definição da produtividade (ZAGONEL et al., 2002).

O Nitrogênio (N) constitui o macroelemento mais limitante na produtividade do trigo, visto que determina o número de afilhos ou perfilhos, sendo essencial na fase de formação dos nós e no início do alongamento. Entretanto, os fertilizantes nitrogenados utilizados em plantas não-leguminosas, como o trigo, constituem um dos mais altos custos da agricultura. (GRAHAM; VANCE, 2000).

O problema básico para a fixação do nitrogênio é a presença da tripla ligação, tornando este gás extremamente estável a temperatura ambiente e, apesar da abundância de N_2 na atmosfera terrestre, os organismos que pertencem ao grupo dos eucariotos (plantas e animais) não conseguem utilizar este elemento diretamente. Apenas uma porção dos organismos do grupo dos procariotos consegue converter ou reduzir enzimaticamente o nitrogênio da atmosfera em amônia, a qual pode ser incorporada para o crescimento e manutenção das células. Estes organismos são denominados diazotróficos e o mecanismo responsável pela incorporação de N à biomassa é chamado de fixação biológica de nitrogênio (FBN), (EVANS; BURRIS, 1992).

O grande interesse na fixação biológica em poáceas é devido à maior facilidade de aproveitamento de água das mesmas em relação às leguminosas, pela maior efetividade fotossintética (DÖBEREINER; DAY, 1976).

As poáceas apresentam um sistema radicular fasciculado, apresentando vantagens sobre o sistema pivotante das leguminosas para extrair água e nutrientes do solo. Por isso, mesmo que apenas uma parte do nitrogênio possa ser fornecida pela associação com bactérias fixadoras, a economia em adubos nitrogenados é igual ou superior àquela verificada com as leguminosas que podem ser auto-suficientes em nitrogênio (DÖBEREINER et al., 1976).

A FBN é o processo pelo qual a maior parte do nitrogênio atmosférico foi incorporado à matéria viva, ao longo da evolução do nosso planeta. Ainda hoje, este processo constitui a principal via de incorporação de nitrogênio ao ecossistema, que constantemente é reciclado para a atmosfera principalmente pela ação de organismos decompositores de matéria orgânica do solo. Dessa forma, a ação de microorganismos fixadores de nitrogênio e denitrificadores garantem um reservatório inesgotável de nitrogênio na atmosfera. Além de garantir um ecossistema em equilíbrio, a redução na aplicação de doses excessivas de compostos nitrogenados, como por exemplo, o nitrato, que contamina as águas e os vegetais consumidos pelo homem, possibilita o desenvolvimento de uma agricultura menos agressiva ao ambiente. A estimativa é de que a contribuição de nitrogênio fixado biologicamente varia de 139 a 170.000.000 toneladas de nitrogênio por ano (PEOPLES; CRASWELL, 1992).

As bactérias do gênero *Azospirillum* são organismos fixadores de nitrogênio, os quais podem viver em associação com a rizosfera das plantas, podendo estar presente tanto dentro quanto fora das raízes, em trigo e em outros cereais. O principal efeito de *Azospirillum* parece estar no aumento do crescimento radicular, que, em condições favoráveis beneficia a absorção de nutrientes e água, conseqüentemente influenciando na produtividade (LIN et al., 1983).

Apresentam um potencial como biofertilizante, contribuindo para o desenvolvimento das plantas por meio da fixação biológica do nitrogênio e produção de substâncias reguladoras do crescimento vegetal (BASHAN et al., 2004).

Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da inoculação de sementes de trigo com bactérias fixadoras de Nitrogênio do gênero *Azospirillum* nos componentes de produção e na produtividade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em maio de 2009. O trabalho foi conduzido em casa de vegetação da Pontifícia Universidade do Paraná, *Campus Toledo* Paraná, localizado no oeste do PR. A área está localizada nas coordenadas 42° 42' 53" S e 53° 44' 35" W, em uma altitude média de 574 metros, com clima subtropical e temperatura média anual de 22°C. O solo é de textura argilosa, classificado como LATOSSOLO VERMELHO eutroférico típico (EMBRAPA, 1999).

A cultivar de trigo utilizada foi a CD 108 com ciclo superprecoce (109 a 120 dias), alto potencial produtivo, boa sanidade e tolerância a brusone, adaptado as regiões Sul, Sudeste e Central do país.

A semeadura foi realizada manualmente em vasos de 0,035 m² no dia 21 de maio de 2009 com uma população de 10 sementes por vaso. Após a emergência das plântulas, se realizou um desbaste deixando uma população de apenas 7 plantas por vaso.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e dez repetições, sendo estes: T1 – testemunha (sem adubação e sem inoculação da bactéria); T2 – inoculação com 1,5mL de *Azospirillum* spp.; T3 – adubação química na dose de 290 kg ha⁻¹e 1,5mL de *Azospirillum* spp.; T4 – adubação química na dose de 250 kg ha⁻¹e 1,5mL de *Azospirillum* spp.; T5 – adubação química na dose de 205 kg ha⁻¹e 1,5mL de *Azospirillum* spp; T6 – adubação química na dose de 250 kg ha⁻¹ (08-15-15).

A inoculação com estirpes de *Azospirillum* spp. foi realizada no momento do plantio utilizado 1,5mL de *Azospirillum* diluídos em 50 mL de água para cada 1 kg de semente. As sementes foram dispostas em uma bandeja onde foi realizada a inoculação.

A adubação de base realizada na ocasião do plantio foi com formulação NPK 08-15-15 com diferentes doses, conforme o tratamento.

Os tratos culturais realizados foram o controle manual de plantas daninhas, através do arranquio e o controle químico de pragas 40 dias após a semeadura, quando a planta estava no período de florescimento, com Beta-cyfluthrin na dose de 500 mL ha⁻¹ para o controle do pulgão da folha.

Avaliações

2.1. Massa fresca e seca de parte aérea (g)

Aos 76 dias após a semeadura foi realizada a coleta da parte aérea com auxílio de uma tesoura comum, cortando as plantas rente ao solo, para a determinação de massa fresca e da massa seca. Para tanto, foram selecionadas 5 repetições ao acaso de cada tratamento. Após a coleta da parte aérea realizou-se a pesagem em balança de precisão de 0,0001g, e após a pesagem as plantas foram embaladas em sacos de papel e levadas à estufa de ventilação forçada de ar onde permaneceram por 24 horas a uma temperatura de 100°C, (SILVA, 2002).

Após esse período o material foi retirado da estufa e novamente pesado, obtendo-se a massa seca de parte aérea.

2.2. Massa fresca e seca (g) e comprimento de raiz (cm)

Aos 76 dias após o plantio foi realizada a coleta da parte radicular para determinação de massa fresca e seca, além do seu comprimento . Foram selecionadas 5 repetições ao acaso

de cada tratamento. As raízes foram lavadas em água corrente, separadas e pré-secadas ao ambiente (luz solar). Após secagem prévia foram realizadas medições com auxílio de uma régua graduada (cm), pesadas em balança de precisão, embaladas em sacos de papel e levadas à estufa de ventilação forçada de ar onde permaneceram por 24 horas a uma temperatura de 100°C (SILVA, 2002).

Ao término deste período o material foi novamente pesado em balança de precisão, obtendo-se desta forma a massa seca de raiz.

2.3. Produtividade (kg ha⁻¹)

A determinação da produtividade foi realizada aos 111 dias após o plantio quando a cultura já estava com seu ciclo completo e a umidade dos grãos estava aproximadamente a 14%.

A colheita foi realizada manualmente retirando as espigas da planta e debulhando-as manualmente. Após a limpeza, as sementes foram pesadas em balança de precisão, obtendo-se consequentemente a produtividade de cada tratamento.

Com os dados obtidos, foram realizadas análise de variância pelo teste de Tukey, com 5% de significância, utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Massa fresca e seca de parte aérea (g)

Para a variável massa fresca de parte aérea, observa-se pela Tabela 1 que houve diferença significativa entre os tratamentos. Sendo que os tratamentos com adubação química e *Azospirillum* spp. produziram a maior quantidade de massa fresca da parte aérea diferenciando-se do tratamento testemunha e do tratamento somente inoculação com *Azospirillum* spp.

Verifica-se, ainda que, pelos dados da Tabela 1, para a variável massa seca de parte aérea houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo que os tratamentos adubação química e *Azospirillum* spp., diferiram significativamente da testemunha e do tratamento com inoculação de apenas *Azospirillum* spp.

Tabela 1. Massa fresca (MF) e seca (MS) (g) da parte aérea de plantas de trigo CD 108 aos 76 dias após semeadura.

Tratamentos	MF (g)	MS (g)
Testemunha (sem inoculante e sem adubacao)	33.60 b	6.4 b
T 2 (inoculação com 1,5mL de <i>Azospirillum</i> spp.)	35.00 b	7.0 b
T3 (adubação a 290 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	70.00 a*	12.60 a*
T4 (adubação química a 250 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	70.60 a*	12.40 a*
T5 (adubação química a 205 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	73.20 a*	13.40 a*
T 6 (adubação química a 250 kg ha ⁻¹)	56.60 a*	12.20 a*
MEDIA	56.50	10.66
CV (%)	17.62	17.29

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Esses dados também conferem com os obtidos por Okon et al. (1996), onde constataram que de 60 a 70 % dos experimentos demonstraram efeitos benéficos da inoculação de *Azospirillum* sobre o acúmulo de massa fresca de parte aérea.

Esse incremento verificado na massa fresca das plantas pode ser creditado a uma eficiente interação planta – bactéria na região da raiz, pois a inoculação com rizobactérias provoca um estímulo ao desenvolvimento do sistema radicular, com aumento do número de pelos radiculares, o que por sua vez, produz uma maior absorção de água e nutrientes e, conseqüentemente, maior crescimento da parte aérea (PAZOS; HERNÁNDEZ, 2001).

Resultados semelhantes foram observados por Curá et al. (2005) ao inocularem *A. brasilense* sobre a massa seca de plântulas de arroz, os quais, consideram a atuação de *Azospirillum* benéfica para as plantas, visto que, liberam fitormônios, controlam o crescimento de patógenos presentes na rizosfera e fixam nitrogênio atmosférico, transformando-o em amônia facilmente assimilável pela planta.

Dobbelaere et al. (2002) também observaram respostas semelhantes em plantas de trigo, em todos os tratamentos inoculados, observando uma massa fresca na parte aérea superior ao observado no tratamento controle.

3.2. Massa fresca e seca (g) e comprimento de raiz (cm)

Observa-se pela Tabela 2, que para a variável massa fresca de raiz, houve diferença significativa entre os tratamentos, verificando que o tratamento com adubação química na dose de 205 kg ha⁻¹ e 1,5mL Kg⁻¹ de semente de *Azospirillum* spp. produziu melhor resultado, sendo semelhante estatisticamente aos tratamentos de adubação química na dose de 250 kg ha⁻¹ e 290 kg ha⁻¹ com 1,5mL Kg⁻¹ de semente de *Azospirillum* spp. e somente adubação química na dose de 250 kg ha⁻¹.

Tabela 2. Massa fresca (MF), seca (MS) e comprimento (CR) de raízes (cm) de plantas de trigo CD 108 aos 76 dias após o plantio.

Tratamentos	MF (g)	MS (g)	CR (cm)
Testemunha (sem inoculante e sem adubaçãp)	10.20 c	1.20 c	23.60 c
T2 (inoculação com 1,5mL de <i>Azospirillum</i> spp.)	12.40 c	2.20 ab	32.40 ab
T 3 (adubação química a 290 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	29.00 ab	5.60 a*	37.80 a*
T 4 (adubação química a 250 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	26.90 ab	5.00 a*	38.20 a*
T 5 (adubação química a 205 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	36.60 a*	6.40 a*	34.80 ab
T 6 (adubação química a 250 kg ha ⁻¹)	24.60 b	4.60 ab	31.20 b
MEDIA	23.23	4.16	33.00
CV (%)	24.28	32.20	9.65

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Para a variável massa seca de raiz, observa-se pela Tabela 2 que houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo os tratamentos com adubação química na dose de 205, 250 e 290 kg ha⁻¹ e com 1,5mL Kg⁻¹ de semente de *Azospirillum* spp., apresentaram diferença significativa dos tratamentos sendo entretanto, semelhante ao tratamento com adubação química de 250 kg ha⁻¹ e inoculação somente com *Azospirillum*.

Observa-se ainda que, para variável comprimento de raiz, houve diferença significativa entre os tratamentos, verificando que os tratamentos adubação química nas doses de 250 e 290 kg ha⁻¹ com 1,5mL de *Azospirillum* spp. diferiram significativamente dos demais tratamentos, sendo semelhantes, entretanto, aos de adubação química na dose de 205 kg ha⁻¹ e 1,5mL de *Azospirillum* spp. e somente inoculação com 1,5mL de *Azospirillum* spp.

Neste trabalho observou-se aumento da massa radicular concordando com dados de pesquisas de Okon et al. (1996) onde 60 a 70 % dos experimentos demonstraram efeitos benéficos da inoculação de *Azospirillum* sobre o crescimento ou produção de algumas culturas de cereais e até leguminosas.

Com relação ao desenvolvimento radicular, a área e o comprimento das raízes das plantas de trigo de todos os tratamentos inoculados, foram numericamente superiores aos observados no tratamento controle do presente trabalho (RADWAN et al., 2004).

Zaied et al. (2003) atribuem esse aumento do tamanho das raízes ao fato de a bactéria produzir hormônios que interferem no crescimento da planta aumentando o volume das raízes, o que possibilita a exploração de um maior volume de solo, aumentando a absorção de água e nutrientes.

Em trabalho realizado a campo, os mesmos autores concluíram que os inoculantes à base de turfa em pó das estirpes de *Azospirillum brasiliense* 245 e JA04 promoveram maior acúmulo de massa seca total da planta de trigo, no período compreendido entre 20 dias após a antese e a maturação. Todavia, apenas a inoculação com a estirpe JA04 resultou em aumento na produção de grãos em relação à testemunha sem nitrogênio (DIDONET et al., 1996).

3.3. Produtividade (kg ha⁻¹)

Verifica-se pelos dados da Tabela 3, que apenas o tratamento com adubação química na dose de 290 kg ha⁻¹ com 1,5mL de *Azospirillum* spp., apresentou diferença estatística significativa dos demais tratamentos para a variável produtividade.

Tabela 3. Avaliação de produtividade (kg ha⁻¹) de plantas de trigo CD 108 aos 111 dias após o plantio.

Tratamentos	Produtividade kg ha ⁻¹
Testemunha (sem inoculante e sem adubação)	743 f
T 2 (inoculação com 1,5mL de <i>Azospirillum</i> spp.)	800 e
T3 (adubação química a 290 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	1143 a*
T4 (adubação química a 250 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	915 b
T5 (adubação química a 205 kg ha ⁻¹ e 1,5mL de <i>Azospirillum</i>)	857 c
T 6 (adubação química a 250 kg ha ⁻¹)	829 d
MEDIA	881.16
CV (%)	6.62

* Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Didonet et al. (1996) citam que vários resultados experimentais assim como no presente trabalho, têm mostrado efeitos benéficos expressivos da inoculação em sementes de trigo com a estirpe 245 de *Azospirillum brasilense*, resultando em aumento de produtividade de grãos, principalmente relacionado à presença da bactéria no interior da raiz do trigo e não na superfície radicular.

Segundo Bashan e Levanony (1990), a inoculação das plantas com bactérias, em especial o *Azospirillum* spp. pode resultar em mudanças significativas tal como no presente trabalho, em vários parâmetros de crescimento das plantas que podem afetar ou não à sua produção.

Comparando-se o tratamento 4 com o 6, observa-se uma diferença significativa na produtividade, sendo o incremento originado pela ação da bactéria no aumento da massa radicular e conseqüente aumento da absorção de água e nutrientes pela raiz.

Observa-se uma diferença de 35% em relação aos tratamentos 3 e testemunha, respectivamente a melhor e menor produtividades.

4. CONCLUSÃO

A inoculação em forma líquida do *Azospirillum* spp. para sementes de trigo apresentou resultados positivos para cultura, tendo um aumento em massa seca e fresca de raiz, de parte aérea, tamanho de raiz e produtividade.

O tratamento com adubação química na dose de 290 kg ha⁻¹ com 1,5mL Kg⁻¹ de semente de *Azospirillum* spp., apresentou a melhor respostas para todos os parâmetros avaliados.

Verifica-se que, a adubação química em complemento com a inoculação de bactérias diazotróficas, proporciona de maneira geral melhores rendimentos para cultura.

REFERÊNCIAS

- BASHAN, Y.; HOLGUIN, G.; DE-BASHAN, L.E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances, p. 35-36, 2004.
- BASHAN, Y.; LEVANONY, H. Current status of Azospirillum inoculation technology: Azospirillum as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiology*, v. 36, p. 591-608, 1990.
- CASTRO, P.R.; KLUGUE, A.R. *Ecofisiologia de cultivos anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca*. São Paulo: Nobel, 1999. 125 p.
- CURÁ, J.A.; RIBAUDO, C.M.; GAETANO, A.M.; GHIGLIONE, H.O. Utilidad de las bacterias promotoras del crecimiento y fijadoras de nitrógeno en el cultivo del arroz durante las primeras etapas de desarrollo. *Foro*, marzo, p. 10-12, 2005.
- DIDONET, D.A.; RODRIGUES, O.; KENNER, M.H. Acúmulo de nitrogênio e de massa de matéria seca em plantas de trigo inoculadas com Azospirillum brasilense. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.31, p.645-651, 1996.
- DOBBELAERE, S.; CROONENBORGH, A.; THYS, A.; BROEK, A.V.; VANDERLEYDEN, J. Phytostimulatory effect of Azospirillum brasilense wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant Soil*, 212:155- 164, 1999.
- DÖBEREINER, J.; DAY, J.M. Associative symbioses in tropical grasses characterization of microorgan. *Proceedings of the 1st. Intl. Symp. Nitrogen Fixation*. v. 2 Pullman, Washington Univ. Press. p. 518-38, 1976.
- DÖBEREINER, J.; MARRIEL, I.E.; NERY, M. Ecological distribution of Spirillum lipoferum Beijerinck. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, v.22, n.10, p.1464-1473, 1976.
- EMBRAPA. - Empresa Brasileira de pesquisa agropecuária. Sistema brasileiro de classificação de solo. 412p.1999.
- EMBRAPA TRIGO. III Plano Diretor da Embrapa Trigo 2004-2007. Passo Fundo, 2005.
- EVANS, H.J.; BURRIS, R.H. Highlights in Biological Nitrogen Fixation during the last 50 years. In: STACEY, G.; BURRIS, R.H.; EVANS, H.J eds. *Biological Nitrogen Fixation*. New York: Chapman and Hall, 1992, p.1-42.
- FERREIRA, D.F. Manual do sistema SISVAR para análises estatísticas. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000. 66p
- GRAHAM, P.H.; VANCE, C.P. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Res.*, 65:93-106, 2000.
- LIN, W.; OKON, Y.; HARDY, R.W.F. Enhanced mineral uptake by Zea mays and Sorghum bicolor roots inoculated with Azospirillum brasilense. *Applied and Environmental Microbiology*, v.45, p. 1775-1779, 1983.
- OKON, Y.; BURDMAN, S.; KIGEL, J.; ITZIGSOHN, R. Physiological properties of Azospirillum brasilense and its growth promoting effects in the rhizosphere. In: *International Symposium on Sustainable Agriculture for the Tropics: the Role of biological Nitrogen Fixation*, Program and Abstracts. Angra do Reis, p. 55-56, 1996.
- PAZOS, M.; HERNÁNDEZ, A. Evaluación de cepas nativas del género Azospirillum y su interacción con el cultivo del arroz. *Cultivos Tropicales*, v. 22, n. 4, p. 25-28, 2001.
- PEOPLES, M.B.; CRASWELL, E.T. Biological nitrogen fixation; investments, expectations and actual contributions to agriculture. *Plant and Soil*, Dordrecht, v.141, n.1, p.13-39, 1992.
- SILVA, D.J. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. viçosa: UFV, 2002. 135p.
- ZAGONEL, J.; VENÂNCIO, W.S.; KUNZ, R.P.; TANAMATI, H. Doses de nitrogênio e densidade de plantas com e sem um regulador de crescimento afetando o trigo, cultivar OR-1. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.32, n.1, p.25-29, 2002.
- ZAIED, K.A.; EL-HADY, A.H.; AFIFY, A.H.; NASSEF, M.A. Yield and nitrogen assimilation of winter wheat inoculated with new recombinant inoculants of rhizobacteria. *Pakist. J. Biol. Sci.*, p. 344-358, 2003.